

舒筋定痛胶囊的质量控制研究

董宪凤^{1,2}, 冯鑫³, 周晶¹, 张瑶纾¹

(1.天津医科大学药学院,天津市临床药物关键技术重点实验室,天津 300070;2.天津市滨海新区食品药品审评认证中心,天津 300457;3.天津市天津医院药剂科,天津 300211)

摘要 目的:研究舒筋定痛胶囊中红花药材的鉴别及血竭素的含量测定方法。方法:采用薄层色谱(TLC)法对红花药材进行鉴别;采用高效液相色谱法(HPLC)测定血竭中血竭素的含量。结果:TLC鉴别斑点清晰,分离度良好,且阴性无干扰;含量测定中血竭素峰形好,分离度符合要求,血竭素在0.087 4~0.728 μg 范围内具有良好的线性关系($r=0.999\ 8$),平均加样回收率为97.14%, $RSD=1.09\%$ ($n=9$)。结论:该方法简便可行,可用于舒筋定痛胶囊的质量控制。

关键词 舒筋定痛胶囊;红花;血竭素;薄层色谱法;高效液相色谱法

中图分类号 R927.11

文献标志码 A

舒筋定痛胶囊是天津市天津医院的医院制剂,由当归、大黄、红花、血竭等12位药组成,具有活血化瘀、消肿止痛、接骨的疗效,用于跌打损伤、腰腿疼痛、促进骨折愈合。原制剂标准中仅对其中的血竭素进行了薄层色谱鉴定,为了保证该制剂的质量和临床应用效果,本文采用薄层色谱法^[1]对红花进行定性鉴别;以高效液相色谱法测定血竭中主要化学成分血竭素的含量^[2],为提高舒筋定痛胶囊的质量控制提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 岛津高效液相色谱仪 LC-2010AHT,岛津高效液相色谱仪工作站 LC-Solution, KQ500B 型超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司)。

1.1.2 试剂与试药 硅胶 G(青岛海洋化工厂);红花对照药材(中国食品药品检定研究所,批号:120907-201111);血竭素高氯酸盐对照品(批号:0811-9302,中国药品生物制品检定所);舒筋定痛胶囊(规格:0.4 g/粒,天津市天津医院制剂室生产,批号:110826、110225、111118);乙腈、磷酸、甲醇为色谱纯(天津市康科德科技有限公司),水为纯化水。

1.2 方法^[3]

1.2.1 红花的薄层色谱鉴别

1.2.1.1 样品供试液制备:取本品6粒内容物,加水30 mL振摇溶解,加无水乙醇70 mL使含醇量达70%,放置4 h,取上清液在水浴上蒸去乙醇,水溶液用醋酸乙酯振摇提取2次,每次10 mL,合并提取液,加无水硫酸钠适量脱水,滤过,滤液作为供试品液。

1.2.1.2 对照药材供试液制备:取红花对照药材1 g,加水40 mL煎煮20 min,滤过,水提液按供试品制备方法制备,得对照药材溶液。

1.2.1.3 阴性供试液制备:取6粒不含红花药材的本品内容物,其制法同样品供试液。

作者简介 董宪凤(1968-),女,副主任药师,硕士在读,研究方向:中药制剂质量标准研究;通信作者:张瑶纾, E-mail: zhangyaoshu@tj-jmu.edu.cn。

1.2.1.4 薄层色谱条件:吸取上述3种溶液各3 μL 分别点于硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-甲醇-水(6:1:5)的上层溶液为展开剂,展开,取出晾干,置紫外灯(365 nm)下检视。

1.2.2 血竭中血竭素的含量测定^[4]

1.2.2.1 色谱条件:色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱,流动相:乙腈-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠溶液(40:60),流速为0.8 mL·min⁻¹,柱温45 $^{\circ}\text{C}$,检测波长为442 nm,进样量10 μL 。

1.2.2.2 供试液制备:(1)对照品溶液的制备:精取血竭素高氯酸盐对照品8.02 mg置200 mL棕色量瓶中,加3%磷酸甲醇溶液20 mL,振摇溶解10 min,用3%磷酸甲醇溶液稀释至刻度,制成含血竭素高氯酸盐的对照品溶液。(2)样品溶液的制备:取装量差异项下本品,研细,混匀,精取约0.5 g,精密加入3%磷酸甲醇溶液20 mL,振摇溶解10 min,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。(3)阴性对照溶液制备:按处方工艺制备不含血竭的阴性样品,按照样品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

1.2.2.3 线性关系考察:精密量取对照品溶液3、5、10、15、20、25 μL ,在“1.2.2.1”项下色谱条件分别进样。

1.2.2.4 精密度试验:精密吸取上述对照品溶液按“1.2.2.1”项下色谱条件连续进样5次。

1.2.2.5 稳定性试验:精密吸取同一浓度的供试品溶液,按“1.2.2.1”项下色谱条件于0、2、4、6、8和12 h分别测定,并计算。

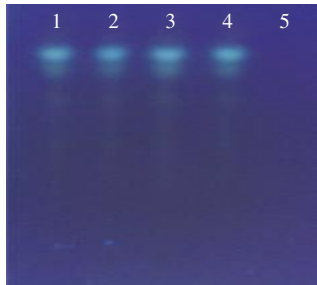
1.2.2.6 重复性试验:分别称取供试品溶液6份,按照“1.2.2.2”项下制备,在“1.2.2.1”项下色谱条件连续进样2次,分别测定峰面积。

1.2.2.7 加样回收试验:取已知含量批号110826的样品9份,精密称定,分别加入血竭素高氯酸盐对照品,按样品测定方法进行测定,计算加样回收率。

1.2.2.8 样品测定:取本品3批,按照供试品溶液的制备方法,按照“1.2.2.1”项下色谱条件进样,分别测定血竭的含量。

2 结果

2.1 薄层色谱测定结果 供试品液在对照药材色谱相应的位置,显相同颜色的荧光斑点。而阴性溶液在相应位置无干扰。见图 1。



1.对照药材溶液;2、3、4.供试品溶液;5.阴性溶液

图1 红花薄层色谱图

2.2 HPLC 测定结果 由图 2 可见,血竭素的保留时间约为 9.2 min;理论塔板数为 16 302;不对称因子为 1.01;血竭素与相邻杂质峰的分度为 6.1。因为制定质量标准要求理论塔板数按血竭素计算应大于 2 000,血竭素与相邻杂质峰的分度应大于 1.5,所以此方法的系统试验数据符合 2010 版《中国药典》(一部)的规定。

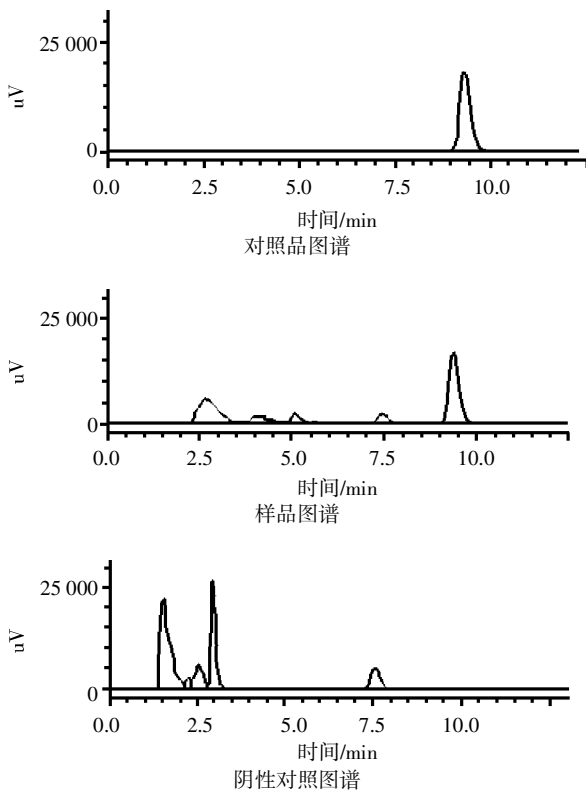


图2 对照品、样品以及阴性对照的 HPLC 图谱

2.3 精密性试验结果 5 次测定血竭素峰面积的 RSD 为 0.12%。

2.4 稳定性试验结果 不同时间内血竭素峰面积的 RSD 为 1.08%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.5 重复性试验结果 6 次测定血竭素含量的 RSD 为 1.14%,表明供试品溶液重复性较好。

2.6 加样回收试验结果 见表 1。加样回收率符合要求。

表 1 舒筋定痛胶囊加样回收率试验

取样量/ g	样品含量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收率/ %	RSD / %
0.2506	0.2872	0.0175	0.3041	96.57	97.14	1.09
0.2560	0.2936	0.0175	0.3106	97.14		
0.2554	0.2928	0.0175	0.3095	95.43		
0.2556	0.2930	0.0218	0.3141	96.79		
0.2536	0.2908	0.0218	0.3117	95.87		
0.2506	0.2874	0.0218	0.3088	98.17		
0.2512	0.2880	0.0262	0.3138	98.47		
0.2522	0.2892	0.0262	0.3148	97.71		
0.2528	0.2898	0.0262	0.3155	98.09		

2.7 样品测定 3 批舒筋定痛胶囊(批号 110826、110225、111118)的血竭素含量($n=3$)分别为 0.460 0、0.456 8、0.481 1 mg/粒。 RSD 分别为 0.24%、0.45%、0.11%。

3 讨论

3.1 红花的薄层色谱条件选择 在红花薄层色谱的供试液制备中,以甲醇直接回流样品粉末 30 min 过滤,滤液作为供试品液,结果杂质和有效成分未分开;开始时首先用水提取可以使有效成分充分提取出来,防止了脂溶性杂质的干扰。

在薄层色谱鉴定中,其展开剂分别选择了乙酸乙酯-甲醇-甲酸-水(7:0.4:2:3)、环己烷-乙酸乙酯(5:3)及环己烷-乙醚-二氯甲烷(1:4:4)系统, R_f 值均太小,因主成分极性较大,后改用极性较大的正丁醇-甲醇-水(6:1:5)的上层溶液为展开剂,结果斑点展开效果较好。

3.2 血竭中血竭素的测定条件考察

3.2.1 称样量的选择^[5] 本文对样品的取样量进行探讨,称样量不同,但稀释方法相同。分别称量 1.5、1.0、0.5 g 的样品,结果显示,前两种称样量因为样品浓度较大,在 HPLC 色谱图中显示峰形不好、分离度不高,当样品称量为 0.5 g 时,可以有效地减少杂质对血竭素的影响,HPLC 色谱图中峰形好,分离度符合 2010 版《中国药典》(一部)的规定。

3.2.2 溶剂的选择^[6] 血竭素性质很不稳定,即使制成高氯酸盐也很容易在 HPLC 色谱图中出现双峰,所以测试中的供试液要用棕色瓶保存,其溶剂中加少量磷酸成酸性可使其稳定并加速溶解,本试验选择 3%磷酸甲醇溶液做为溶剂。

参考文献:

- [1] 吕武清,龙新华.中成药中的药材薄层色谱鉴别[S].北京:人民卫生出版社,1997:275-276
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[M].北京:中国医药科技出版社,2010:1169-1170
- [3] 扈晓佳,殷莎,袁婷婷,等.红花的化学成分及其药理活性研究进展[J].药学实践杂志,2013,31(3):161
- [4] 黄余燕,郭建红.进口与国产血竭的 HPLC 鉴定[J].中国现代药物应用,2008,6(11):35
- [5] 贾贵龙,石春英,车轩. HPLC 测定麝香接骨片中血竭素的含量[J].中国实用医药,2010,5(33):67
- [6] 陈军霞,邱碧菡,潘林梅,等.血竭的现代研究[J].现代中药研究与实践,2011,25(3):81

(2013-10-02 收稿)